



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI AKTIF TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis*) DAN KEMAMPUANNYA DALAM MELARUTKAN KALSIUM OKSALAT

SKRIPSI



**HENDRA PRASETIAWAN
07132025**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS PADANG
2012**

ABSTRAK

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI AKTIF TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis*) DAN KEMAMPUANNYA DALAM MELARUTKAN KALSIMUM OKSALAT

Oleh:

Hendra Prasetiawan (07932025)

Dibimbing oleh: Dr. Afrizal dan Bustanul Arifin M.Si

Pengujian kelarutan kalsium oksalat dalam beberapa ekstrak dan fraksi dari tanaman Tempuyung (*Sonchus arvensis*) serta isolasi triterpenoid dari ekstrak dan fraksi n-heksan telah dilakukan. Pengujian dilakukan dengan merendam kalsium oksalat dalam ekstrak selama 8 jam, dan jumlah kalsium oksalat yang terlarut diukur dengan AAS. Senyawa diisolasi dengan metoda maserasi, kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis preparatife, dan dikarakterisasi dengan metoda spektroskopi. Kelarutan kalsium oksalat dalam fraksi etil asetat 1,6269%, fraksi air 0,13501, dan fraksi n-heksan 2,66112%. Senyawa hasil isolasi adalah triterpenoid yang mempunyai gugus fungsi O-H, C-O, C=C, germinal dimetil. Serta memiliki kemampuan melarutkan kalsium oksalat sebesar 0,37%

Key word : *Sonchus arvensis*, fraksi aktif, triterpenoid, kelarutan

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Aktif Tempuyung (*Sonchus 'arvensis*) dan Kemampuannya Dalam Melarutkan Kalsium Oksalat**. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mengikuti ujian sarjana di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.

Penyelesaian makalah ini tidak lepas berkat dorongan dan bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

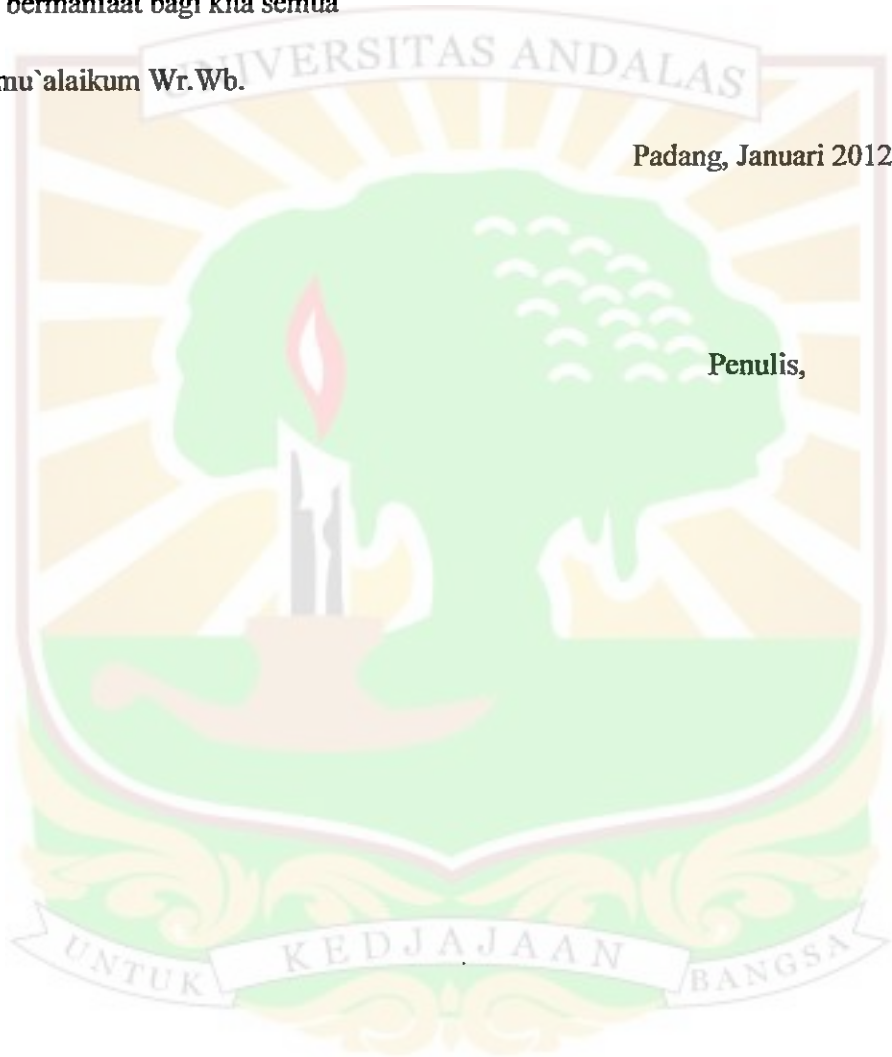
1. Kedua orang tua serta seluruh keluarga yang senantiasa memberikan bantuan moril maupun materil kepada penulis.
2. Bapak Dr. Afrizal, MS dan bapak Drs. Bustanul Arifin, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah bersedia memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan bantuan pada penulis.
3. Bapak Dr. Adlis Santoni selaku ketua Jurusan Kimia.
4. Bapak Dr. Mai Efendi sebagai koordinator pendidikan jurusan kimia
5. Bapak alm Zaimi Abdullah, MS dan Ibu Dra Umiati Loekman, M.Si sebagai Pembimbing Akademik yang telah membantu dan memotivasi penulis selama kuliah
6. Staf pengajar di Jurusan Kimia, pegawai Jurusan Kimia.
7. Ibu Mitralena analis laboratorium Kimia Organik Bahan Alam yang telah memfasilitasi penulis selama penelitian
8. Rekan mahasiswa kimia yang sama-sama melakukan penelitian dan saling memberi dukungan.
9. Teman – teman kimia 2007

Tuhan mendengar Doa setiap insan yang yakin dan Tuhan jugalah yang akan memberikan arahan untuk jalan hidup kita. Saran dan kritik yang bersifat membangun, penulis harapkan untuk kearah yang lebih baik dari pembaca sekalian yang senantiasa diridhoi Allah SWT. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua

Wassalamu`alaikum Wr. Wb.

Padang, Januari 2012

Penulis,



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia sudah mengenal dan memakai tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapi. Hal ini telah dilakukan jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern menyentuh masyarakat. Pengetahuan tentang tumbuhan obat merupakan warisan budaya bangsa turun temurun. Kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan ternyata tidak mampu begitu saja menghilangkan arti pengobatan tradisional. Apalagi keadaan perekonomian Indonesia saat ini yang mengakibatkan harga obat-obatan modern menjadi mahal. Oleh karena itu salah satu pengobatan alternatif yang dilakukan adalah meningkatkan penggunaan tumbuhan berkhasiat obat di kalangan masyarakat. Agar peranan obat tradisional dalam pelayanan kesehatan masyarakat dapat ditingkatkan, perlu dilakukan upaya pengenalan, penelitian, pengujian dan pengembangan khasiat dan keamanan suatu tumbuhan obat.¹

Senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan merupakan hasil dari metabolisme, baik metabolisme primer maupun metabolisme sekunder. Hasil metabolisme sekunder banyak memberikan efek fisiologis dan efek farmakologis yang lebih dikenal dengan senyawa kimia aktif. Keanekaragaman dan kekayaan sumber daya hayati menyediakan peluang dalam mengkaji kandungan kimia berkhasiat untuk diolah menjadi antara lain sebagai bahan baku industri, pangan dan sebagai obat-obatan. Banyak jenis tumbuhan yang sudah dimanfaatkan sejak lama sebagai makanan dan obat-obatan tradisional, tapi belum diketahui senyawa kimia yang terkandung di dalamnya.

Penggunaan tumbuhan obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit telah lama dilakukan manusia. Hal ini mendorong para ahli untuk mengkaji kandungan tumbuhan tersebut yang berperan sebagai sumber obat. Sampai saat ini masih banyak potensi tumbuhan obat yang belum diteliti.

Hal ini mendorong para ahli untuk melakukan penelitian tentang isolasi, sintesis, uji bioaktivitas dan pemanfaatannya lebih lanjut.²

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah Tempuyung (*Sonchus arvensis*) memiliki sejarah panjang dalam dunia pengobatan herbal. Daun atau seluruh bagian tanaman tempuyung dapat digunakan sebagai obat batu saluran kencing, batu empedu, disentri, wasir, rematik/gout, radang usus buntu (apendisitis), radang payudara (mastitis), bisul, beser mani (spermatorea), darah tinggi (hipertensi), luka bakar, pendengaran kurang (tuli), memar. Pemanfaatan tempuyung untuk pengobatan kelebihan asam urat asam dan batu ginjal memerlukan daun tempuyung (6,25 g), akar tempuyung (6,25g), jahe merah (25,00 g), cengkeh (0,25 g), kulit manis (0,25 g), pengawet Natrium Benzoat (0,50 g), dan gula merah secukupnya. Cara pembuatannya, daun dan akar tempuyung segar dibersihkan dari tanah atau kotoran. Kedua bahan tersebut direbus dengan air 500 ml bersama bahan-bahan lainnya, biarkan mendidih sampai volume menjadi 250 ml. Setelah dingin baru ditambahkan pengawet Na.Benzoat, lalu disaring dengan saringan teh atau kain kassa kedalam botol.²

Efek farmakologis dari hasil penelitian pengaruh ekstrak air dan ekstrak alkohol daun tempuyung terhadap volume urine tikus dan pelarutan batu ginjal adalah daun tempuyung mempunyai daya melarutkan batu ginjal dimana daya melarutkan batu ginjal oleh ekstrak air lebih baik dari pada ekstrak alkohol (Giri Hardiyatmo 1988). Dari uji klinis dari tanaman tempuyung dua senyawa flavonoid mampu bereaksi dengan batu ginjal berkalsium setelah dilakukan perendaman pada 37°C selama 4 jam, kedua senyawa tersebut mengarah pada apigenin 7 - glukosida dan luteolin 7-glukosida. Uji pra klinis efek diuretik tempuyung pada percobaan in vivo infus tempuyung menunjukkan efek menghambat batu kandung kemih buatan pada tikus, infus tempuyung juga menunjukkan efek melarutkan kalsium oksalat, kolesterol asam urat dan batu ginjal secara in vitro. Diduga mekanisme pelarutan batu ginjal disebabkan oleh pembentukan kompleks antara flavonoid dengan kalsium yang menyusun batu ginjal.³

Berdasarkan hal tersebut diatas maka peneliti tertarik untuk meneliti isolasi senyawa dari fraksi aktif *Sonchus arvensis* dan kemampuannya dalam melarutkan kalsium oksalat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana kemampuan ekstrak daun *Sonchus arvensis* untuk melarutkan kalsium oksalat?
2. Fraksi manakah yang lebih aktif dalam melarutkan kalsium oksalat?
3. Apakah senyawa hasil isolasi memiliki kemampuan melarutkan kalsium oksalat

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kelarutan kalsium oksalat oleh ekstrak tanaman *Sonchus arvensis* serta mengisolasi metabolit sekunder dari fraksi aktif ekstrak tanaman tersebut.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menginformasikan senyawa aktif terhadap kelarutan kalsium oksalat pada tanaman *Sonchus arvensis*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman *Sonchus arvensis*

2.1.1 Deskripsi Botani

Tanaman *Sonchus arvensis* adalah terna tahunan dan tingginya dapat mencapai 2 m. Daun tunggal, daun bagian bawah terpusat membentuk roset, bentuk lonjong atau lanset tepi berlekuk menjari atau berlekuk tak teratur, pangkal berbentuk panah atau jantung, ujung meruncing, panjang daun 6-48 cm dan lebar 10 cm. Bunga majemuk, berbentuk bonggol yang tergabung dalam malai, mahkota merah kecoklatan, bonggol bunga berukuran 2 cm batang berusuk dan bergetah putih, akar tunggang, kokoh.

Nama daerah yaitu : *Lalakina*, *galibag*, *Lempung*, *jombang*, *Rayana* (Sunda), *tempuyung* (Jawa), *sibiso* (Minang). Nama asing yaitu : *Niu she tou* (Cina), *Laitron des champs* (Perancis), *Sow thistle* (India).²

Ekologi dan penyebaran tumbuh liar di Jawa, di daerah yang banyak hujan pada ketinggian 50 m sampai 1650 m di atas permukaan laut tumbuh di tempat terbuka, di tempat yang bertebing, di pematang, di pinggir saluran air yang baik tata airnya.

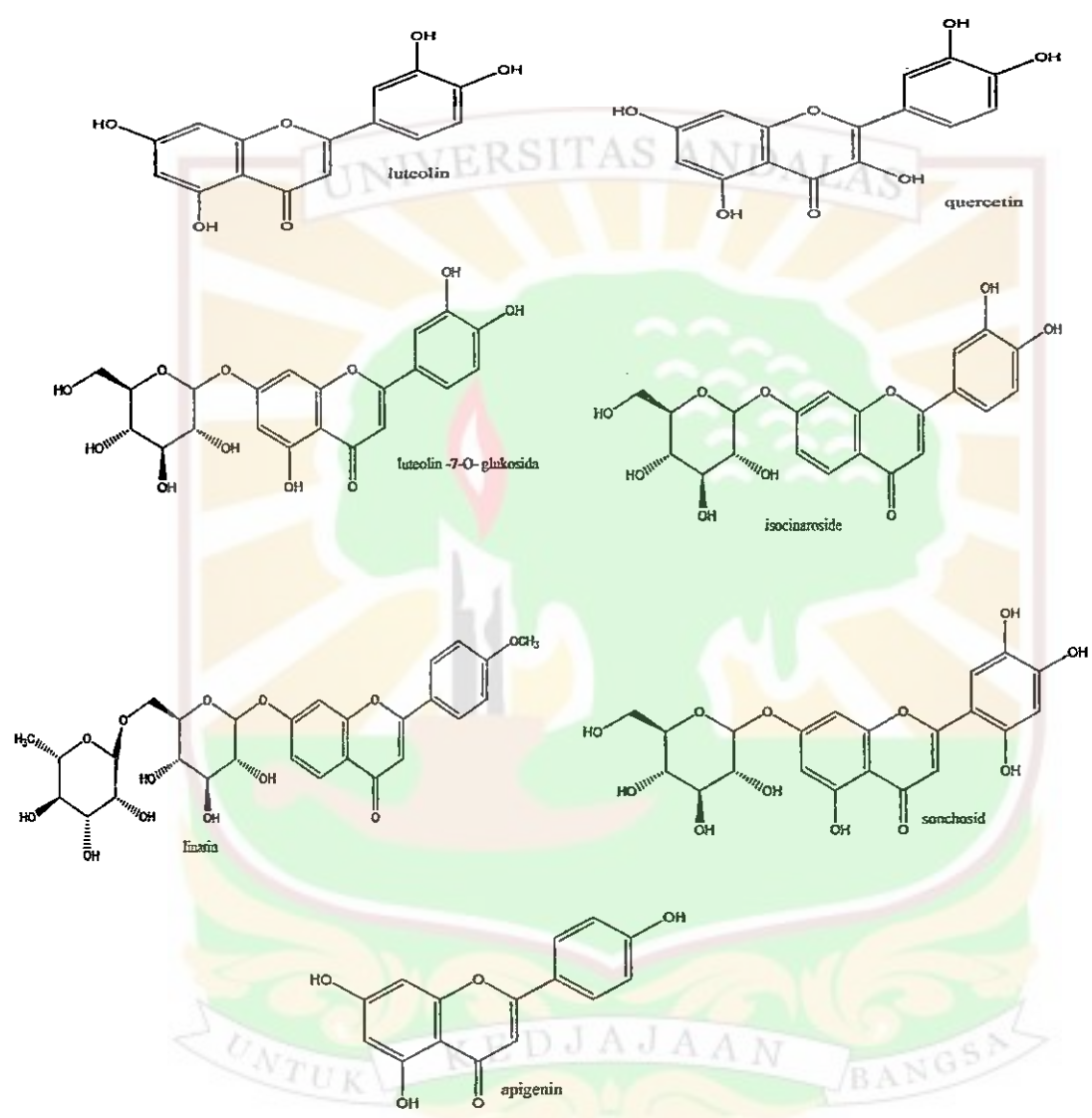
Taksonomi tanaman tersebut adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Sub Classis	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Genus	: <i>Sonchus</i>
Spesies	: <i>Sonchus arvensis</i> .

Gambar dari tanaman *Sonchus arvensis* dapat dilihat pada lampiran I

2.1.2 Kandungan Kimia

Sonchus arvensis mengandung senyawa kimia golongan flavonoid seperti luteolin, quercetin , luteolin-7-O-glukosida, isocinaroside, linarin ,sonchoside, apigenin, inositol.⁴ Struktur kandungan kimia dari *Sonchus arvensis* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur senyawa yang terkandung dalam tanaman *Sonchus arvensis*

2.1.3 Khasiat dan Kegunaan

Sonchus arvensis berkhasiat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Banyak pengalaman yang menunjukkan khasiat dari *Sonchus arvensis* untuk menyembuhkan penyakit, seperti batu ginjal, asam urat, bisul, abses, kolesterol, diare, dan radang. Seluruh bagian tanaman banyak digunakan untuk obat terutama untuk masalah empedu dan kemih.

Daun atau seluruh bagian tanaman *Sonchus arvensis* dapat digunakan sebagai obat batu saluran kencing, batu empedu, disentri, wasir, rematik/gout, radang usus buntu (apendisitis), radang payudara (mastitis), bisul, besar mani (spermatorea), darah tinggi (hipertensi), luka bakar, pendengaran kurang (tuli), memar.

Akar *Sonchus arvensis* mengandung senyawa flavonoid total kira-kira 0,5% dan flavonoid yang terbesar adalah apigenin -7-O-glukosida. Senyawa flavonoid menunjukkan aktifitas yang bermacam-macam, diantaranya mempunyai aktifitas sebagai diuretik, anti virus, anti histamin, anti hipertensi, bakteriostatik. Selain itu flavonoid juga mempunyai aktifitas menurunkan kadar asam urat melalui penghambatan enzim xantin oksidase.²

2.2 Penyakit Batu Ginjal

Penyakit batu ginjal yaitu suatu penyakit dimana terdapatnya endapan yang mengeras didalam ginjal. Penyakit batu ginjal disebut juga penyakit kencing batu dan dalam istilah asing disebut *renal stone*, *urolithiasis* atau *calculus urinaria*. Terjadinya pengendapan tersebut disebabkan oleh beberapa faktor seperti infeksi oleh bakteri, kekurangan vitamin A, kelebihan kalsium dalam urin, makanan, iklim, bertambahnya kadar garam dalam urin dan keturunan.⁵

Batu-batu ini tidak saja terdapat di dalam ginjal tetapi batu yang ada di ginjal dapat turun ke saluran dibawahnya, yaitu uriter, kandung kemih (buli-buli) dan saluran kencing terluar (uretra) dan dapat juga terjadi langsung di kandung kemih.⁵

Gejala-gejala yang dapat ditimbulkan oleh penyakit ini adalah perasaan nyeri di daerah pinggang ataupun di daerah saluran kencing lainnya. Rasa nyeri ini mulai dari yang ringan sampai dengan yang berat tergantung dari besar kecilnya batu yang terbentuk. Gejala-gejala lain diantaranya adalah pengeluaran urin tidak lancar, urin

kadang-kadang disertai dengan keluarnya darah karena luka-luka yang ditimbulkan oleh gesekan antara batu dan dinding saluran kencing.⁶

Penyakit batu ginjal sering terjadi pada pria daripada wanita, jarang terdapat pada anak-anak dan ini disebabkan penyumbatan pada leher kandung kemih pria, sedangkan pada wanita hal ini jarang terjadi karena leher kandung kemihnya pendek dan lebar, sehingga butir-butir batu yang masih kecil mudah lewat bersama air kemih tanpa menimbulkan gangguan.⁷

Penyebab batu ginjal menurut Wakidi (2003) :

- a) Terlalu pekatnya kadar garam dalam urin sehingga mengendap menjadi batu dalam saluran kemih.
- b) Terlalu lama menahan kemih sehingga urin menjadi pekat.
- c) Kurang minum air putih sehingga jumlah urin yang dikeluarkan kurang.
- d) Terlalu banyak zat kimia yang terdapat dalam urin, seperti kapur dan garam oksalat.⁸
- e) Kelebihan vitamin D, kadar asam urat, atau terlalu banyak mengkonsumsi kalium.

2.3 Jenis-Jenis Batu Ginjal

5 jenis batu ginjal menurut (Nurlina, 2008) :

1. Batu kalsium oksalat

Batu Kalsium oksalat biasanya kecil, kasar, dan jarang membentuk duri. laki-laki 2 kali lebih sering daripada wanita. Angka kejadian tertinggi usia 30-50 tahun. Batu kalsium oksalat terjadi karena proses multifaktor, kongenital dan gangguan metabolik sering sebagai faktor penyebab. Dua bentuk yang berbeda yaitu:

a. *Whewellite (Calcium Oxalate Monohydrate)*.

berbentuk padat, warna coklat/ hitam dengan konsentrasi asam oksalat yang tinggi pada air kemih.

b. Kombinasi kalsium dan magnesium menjadi *weddllite* (Kalsium Oksalat Dihidrat) : batu berwarna kuning, mudah hancur daripada *whewellite*.⁹

2. Batu asam urat

Lebih dari 15% batu saluran kemih dengan komposisi asam urat. Batu jenis ini terbentuk dari kristal-kristal pada piala ginjal, berukuran kecil dan keras. Penderita biasanya berusia 60 tahun. Pada penderita berusia lebih muda biasanya juga menderita kegemukan.⁹

3. Batu kalsium fosfat

Dua macam batu kalsium fosfat terjadi tergantung suasana pH air kemih. Batu kalsium posfat sering bercampur dengan magnesium ammonium posfat. Batu jenis ini berwarna kuning atau abu-abu, berbentuk duri-duri dan berlapis-lapis.⁹

4. Batu struvit (magnesium-amonium fosfat)

Disebabkan karena infeksi saluran kemih oleh bakteri yang memproduksi *urease* (*proteus*, *providentia*, *klebsiella* dan *psedomonas*). Frekuensi 4-6%, batu struvit lebih sering terjadi pada wanita daripada laki-laki. Infeksi saluran kemih terjadi karena tingginya konsentrasi ammonium dan pH air kemih >7.

5. Batu Cystine

Batu *Cystine* terjadi pada saat kehamilan, disebabkan karena gangguan ginjal. Frekuensi kejadian 1-2%. Disebabkan faktor keturunan dengan kromosom autosomal resesif, terjadi gangguan transport amino *cystine*, *lysine*, arginin dan *ornithine*. Memerlukan pengobatan seumur hidup.⁹

2.4 Terpenoid

2.4.1 Tinjauan Umum

Terpenoid biasanya banyak terdapat pada senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri dan resin tumbuhan. Sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun beberapa oleh unit isopren yang bergabung dengan ikatan kepala ke ekor.¹⁰

Berdasarkan jumlah unit isopren yang membangunnya senyawa triterpenoid dapat dibagi menjadi beberapa golongan, yaitu : monoterpen ($C_{10}H_{16}$), seskuioterpen ($C_{15}H_{24}$), diterpen ($C_{20}H_{32}$), triterpen ($C_{30}H_{50}$), tetraterpen ($C_{40}H_{64}$), dan politerpen (C_5H_8)_n.⁷ Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam

sitoplasma sel tumbuhan. Kadang-kadang minyak atsiri terdapat di dalam kelenjar khusus pada permukaan daun, sedangkan karotenoid terutama terdapat dalam kloroplas pada daun dan daun bunga.¹¹

Terpenoid memiliki peranan yang bermacam-macam. Absidin yang berasal dari golongan seskuiterpen dan giberelin yang berasal dari golongan diterpenoid memiliki sifat yang dapat mengatur pertumbuhan. Begitu pula karotenoid yang berasal dari gabungan tetraterpenoid berfungsi sebagai warna tumbuhan dan merupakan pigmen pembantu proses fotosintesis.¹²

Beberapa senyawa terpenoid dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan parfum, pemberi aroma, dalam bidang farmasi, insektisida, bakterisida, katalis kondensasi, bahan perekat, pelarut, dan bahan pembuat plastik.¹²

2.4.2 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan suatu senyawa yang memiliki kerangka dasar yang terdiri dari enam unit satuan isopren dan dalam biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualen.^{10,11}

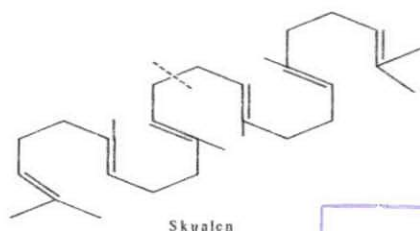
Triterpenoid merupakan golongan terbesar dari terpenoid dan tersebar luas dalam tumbuh-tumbuhan dan hewan. Triterpen tetrasiklik banyak terdapat pada hewan, sedangkan triterpen monosiklik banyak terdapat pada tumbuhan. Di alam triterpen terdapat dalam bentuk bebas, bentuk ester atau bentuk glikosidanya.^{10,12}

Umumnya senyawa triterpen tidak berwarna, berbentuk kristal, memiliki titik leleh yang tinggi. Secara kualitatif senyawa ini dapat diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard yang memberikan pengamatan warna merah jingga sampai ungu.¹⁰

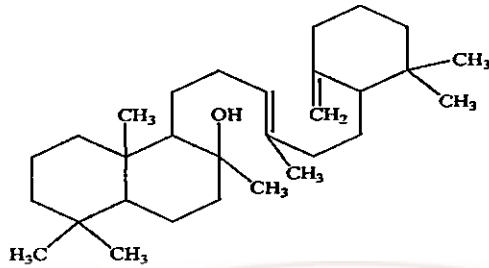
Berdasarkan cincin yang membentuknya, senyawa triterpenoid terbagi atas:¹²

1. Triterpenoid asiklik. Adalah triterpen yang tidak mempunyai cincin tertutup

Contoh :



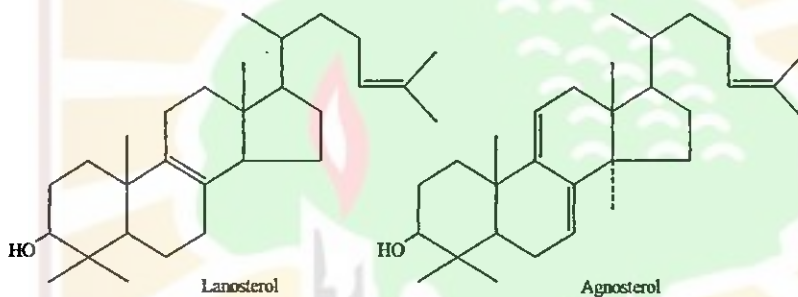
2. Triterpenoid trisiklik. Adalah triterpen yang memiliki tiga cincin tertutup
Contoh : ambrein yang diisolasi dari tumbuhan laut (arbergis)



Ambrein

3. Triterpenoid tetrasiklik

Triterpenoid ini dibentuk oleh tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Contohnya lanosterol dan agnosterol. Contoh :



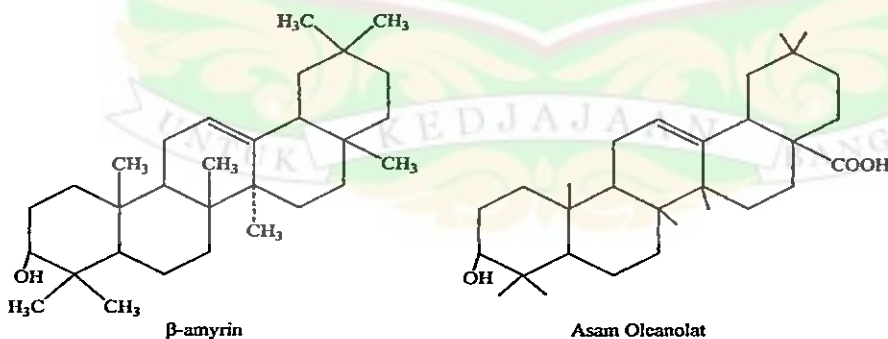
Lanosterol

Agnosterol

4. Triterpenoid pentasiklik adalah triterpen yang mempunyai 5 cincin tertutup pada strukur molekulnya.

Triterpenoid pentasiklik dapat dibagi lagi kedalam 4 kelompok yaitu :

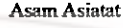
- a. Kelompok β amyrin. Contoh :



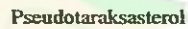
β -amyrin

Asam Olcanolat

- b. Kelompok α amyrin. Contoh :



UNTUK KEDAJARAN BANGSA



2.5 Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Spektroskopi Serapan Atom atau yang sering dikenal dengan istilah *AAS (Atomic Absorption Spectrophotometry)* adalah suatu metoda analisa yang paling banyak digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu unsur logam dalam cuplikan berdasarkan pada penyerapan energi oleh atom bebas yang dihasilkan cuplikan pada panjang gelombang spesifik dan karakteristik setiap unsur.¹³

Prinsip peralatan didasarkan pada pengukuran sinar yang diabsorpsi oleh spesies atom. Oleh karena itu didalam pengukurannya, sampel harus diubah menjadi atom-atom bebas. Setelah atom-atomnya dalam keadaan bebas, maka atom-atom ini akan mengabsorpsi radiasi pada panjang gelombang tertentu dan elektronnya akan terksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Energi panas dari nyala juga dapat menyebabkan tereksitasinya eletron dalam atom. Apabila elektron ini kembali ke tingkat enerbi yang lebih rendah maka akan terjadi radiasi cahaya yang khas yang menghasilkan garis spektrum yang tajam dengan intensitas maksimum.¹⁴

Sistem peralatan AAS padda dasarnya terbagi atas lima bagian pokok :

1. Sumber cahaya, untuk menghasilkan sinar yang diperlukan.
2. Peralatan atomisasi / system absorpsi / nyala pengatom, untuk menghasilkan atom-atom bebas dan menyediakan media absorpsi.
3. Monokromator, untuk menyeleksi / memisahkan spectra sinar yang dikehendaki.
4. Detektor, untuk mengukur intensitas sinar yang sebelum dan sesudah diserap oleh atom-atom netral.
5. Rekorder, untuk mengukur isyarat elektronik yang diterima detektor, yang harus diubah dalam bentuk yang dapat dibaca dan direkam langsung.

Metoda analisa AAS bersifat cepat, selektif, sensitif, dan mempunyai akurasi tinggi serta dapat digunakan secara rutin.¹⁵

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Maret 2011 sampai September 2011 di laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *rotary evaporator Heidolph WB 2000*, *Atomic Absorption Spectrophotometer WFX-320*, spektrofotometer UV-Vis *pharmaspec 1700 shimadzu*, spektroskopi inframerah FTIR Perkin Elmer 1600 series, neraca analitis, pipa kapiler, kolom kromatografi dengan diameter 2,5 cm serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk proses maserasi adalah n-heksana, etil asetat dan metanol teknis yang telah didistilasi Untuk uji fitokimia digunakan metanol, kloroform, pereaksi Meyer, akuades, besi (III) klorida, asam sulfat 2 N, anhidrida asetat, amonia, pereaksi Sianidin test (asam klorida pekat, bubuk magnesium), asam sulfat pekat, *Sonchus arvensis*, dan silika gel 60 F₂₅₄. Bahan yang digunakan untuk proses uji kelarutan adalah kalsium oksalat, HNO₃ 0,15 M. Adsorben yang dipakai pada proses kolom kromatografi adalah silika gel 60 Art,77733 keluaran Merck.

3.3 Persiapan Sampel

Sampel *Sonchus arvensis* yang diperlukan untuk penelitian diambil dilingkungan kampus Universitas Andalas Padang. Sampel di kering anginkan pada udara terbuka dan tidak terkena cahaya matahari langsung kemudian dirajang, dihaluskan dengan gerinda dan ditimbang.



3.4 Uji Fitokimia *Sonchus arvensis*

Uji fitokimia dilakukan terhadap flavonoid, triterpenoid, saponin, steroid, dan senyawa fenolik.¹⁶ Sampel sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dimaserasi dengan metanol dan dipanaskan dengan penangas air selama 15 menit. Filtrat dipisahkan ke dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan kloroform : air suling (1:1) sebanyak 5 mL, dikocok, dan dibiarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid, sedangkan lapisan air untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin.

1. Pemeriksaan Flavonoid (Sianidin Tes)

Lapisan air diambil 1 ml dan dipindahkan dengan menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan asam klorida pekat 4 tetes dan beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan adanya flavonoid.

2. Pemeriksaan Fenolik

Lapisan air diambil 1 ml dan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian ditambahkan pereaksi besi (III) klorida pekat 3 tetes, terbentuknya warna biru/ungu menandakan adanya kandungan senyawa fenolik.

3. Pemeriksaan Saponin

Lapisan air diambil 1 ml dan dikocok kuat-kuat dalam sebuah tabung reaksi, terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa tetes asam klorida pekat menunjukkan adanya saponin.¹⁶

4. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid (Liebermann-Burchard)

Lapisan kloroform diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tiga lubang plat tetes, dibiarkan hingga kering. Ke dalam satu lubang plat tetes ditambahkan asam sulfat pekat, terbentuknya warna hijau atau hijau-biru menandakan adanya steroid. Kemudian ke dalam lubang plat tetes lainnya ditambahkan setetes anhidrida asetat dan setetes asam sulfat pekat, bila terbentuk warna merah atau merah-ungu menandakan adanya triterpenoid.¹⁶

5. Pemeriksaan Alkaloid.

Sampel sebanyak 2 - 4 gram dipotong, kemudian digerus dalam lumpang dengan penambahan sedikit pasir dan 10 mL kloroform-amoniak 0,05 N, kemudian diaduk/ digerus perlahan. Campuran disaring menggunakan kapas sebagai penyaring dan filtrat dimasukkan ke dalam sebuah tabung reaksi, terhadap filtrat ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2 N dan dikocok perlahan. Campuran dibiarkan sejenak sampai terbentuk pemisahan lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam diambil dengan bantuan pipet dan dipindahkan ke dalam sebuah tabung reaksi kecil. Kemudian ditambahkan pereaksi Meyer, reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih atau kabut putih.¹⁷

6. Pemeriksaan Kumarin

Sampel sebanyak 2-5 gram dipotong dan diekstraksi dengan pelarut metanol. Hasil ekstraksi ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering pada udara terbuka. Sampel dielusi dalam bejana yang berisi 10 mL eluen etil asetat 100 %. Noda yang dihasilkan dimonitor di bawah lampu UV (365 nm). Hasil KLT kemudian disemprot dengan larutan natrium hidroksida 1% dalam etanol : air (1:1) dan selanjutnya dilihat dibawah lampu UV (365 nm). Adanya fluoresensi yang bertambah terang setelah disemprot dengan natrium hidroksida 1% menandakan adanya senyawa kumarin.¹⁸

3.5 Uji Kelarutan Kalsium Oksalat oleh ekstrak *Sonchus arvensis*

Sampel yang telah dikeringkan dan dihaluskan dibagi menjadi tiga masing-masing 25 gram. Kemudian masing-masingnya di maserasi dengan metanol, etil asetat dan n-heksana dengan volume 100 mL selama tiga hari pada wadah yang terpisah. Maserasi dilakukan empat kali. Filtrat yang telah didapatkan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak metanol, etil asetat dan n-heksana. Larutan ekstrak dibuat dengan konsentrasi 2% dari masing-masing ekstrak pekat metanol, etil asetat dan heksana dengan menggunakan pelarut metanol. Dua tabung reaksi disediakan untuk setiap larutan ekstrak tersebut dan dimasukkan 100 mg

kalsium oksalat. Ke dalam tabung reaksi tersebut kemudian ditambahkan larutan ekstrak sampel. Perendaman dilakukan selama 8 jam. Karena pada penelitian dari (Mutia Sari Dewi 2010) mempelajari daya larut kalsium oksalat oleh ekstrak dan fraksi air daun kejobeling didapatkan kondisi optimum kemampuan melarutkan kalsium oksalat setelah direndam selama 8 jam. larutan disaring, filtrat hasil saringan di tambahkan 1 mL HNO_3 0,015 M dan diencerkan sampai volumenya 5 mL dengan aquades. Kemudian kandungan Ca^{2+} terlarut ditentukan menggunakan AAS.

3.6 Isolasi Senyawa Triterpenoid

3.6.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Metoda ekstraksi digunakan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun *Sonchus arvensis* pada penelitian ini adalah maserasi, karena senyawa bahan alam yang terkandung didalam sampel belum diketahui sifatnya dan jumlah sampel cukup banyak. Selain itu cara ini juga cukup mudah dan sederhana .

Sampel kering daun *Sonchus arvensis* sebanyak 1 kg dirajang dan dihaluskan dengan gerinda. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam wadah gelas berwarna gelap dan terlindung cahaya. Maserasi menggunakan pelarut metanol 3 x 1000 mL sambil sesekali diaduk, masing-masing selama 3 hari. Lalu disaring dan dilakukan berulang-ulang selama 2 minggu. Maserasi disaring sehingga diperoleh ekstrak metanol yang kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C sehingga didapatkanlah ekstrak pekat metanol sebanyak 60,25 gram.

Ekstrak pekat metanol sebanyak 60,25 gram difraksinasi dengan pelarut n-heksana terlebih dahulu sebanyak 10 kali dengan volume larutan 400 mL setiap kali fraksinasi sehingga didapatkanlah dua fraksi yaitu fraksi n-heksana dan fraksi metanol. Komponen yang terdapat dalam fraksi metanol namun tidak terdistribusi dalam pelarut n-heksana difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 8 kali dengan volume 400 mL setiap kali fraksinasi dan penambahan 150 mL air untuk memperjelas bidang batas. Dari fraksinasi didapatkan 2 fraksi lagi yaitu fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air. Filtrat kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C

3.6.2 Uji kelarutan kalsium oksalat oleh masing- masing fraksi

Pengujian kelarutan kalsium oksalat juga dilakukan terhadap fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak metanol. Larutan dibuat dengan konsentrasi 3 % dari masing-masing fraksi. Kemudian dilakukan perendaman ± 100 mg kalsium oksalat untuk masing-masing fraksi selama 8 jam. Larutan disaring. Filtrat hasil saringan ditambahkan 1 mL HNO_3 0,015 M dan diencerkan sampai volumenya 5 mL dengan aquades. Kemudian kandungan Ca^{2+} terlarut ditentukan menggunakan AAS.

3.6.3 Pemurnian Fraksi n-heksana *Sonchus arvensis* dengan Kromatografi

Pemisahan komponen-komponen yang terdapat dalam fraksi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom. Uji KLT dilakukan dengan berbagai perbandingan pelarut mulai dari pelarut yang bersifat non polar (n-heksana) hingga pelarut yang bersifat polar (MeOH). Hal ini bertujuan untuk menentukan jumlah komponen yang terdapat dalam fraksi dengan melihat jumlah dan warna noda yang terbentuk pada plat KLT.

Dari hasil KLT diketahui bahwa tidak terjadi pemisahan yang baik dari komponen fraksi heksana. Oleh sebab itu pemisahan masing-masing komponen dilakukan secara kromatografi kolom dengan sistem elusi bergradien atau *step gradien polarity (SGP)* menggunakan fasa diam silika gel. SGP didasarkan pada penarikan pita-pita pada kolom kromatografi sehingga volume eluen akan ditentukan oleh pita-pita tersebut. Perbandingan eluen dimulai dari pelarut n-heksana 100 % hingga pelarut yang polar etil asetat 100% saja karena pada eluen etil asetat 100% pita tidak turun lagi dan warna pita sudah mulai menghitam maka elusi dihentikan sampai eluen etil asetat 100%. Eluen ditingkatkan kepolarannya apabila pita yang turun dengan eluen sebelumnya telah terelusi semuanya dan ditampung pada vial 15 mL. Kolom silika gel dibuat dengan mensuspensikan silika gel (120 g) dengan pelarut n-heksana. Tujuannya adalah untuk menghomogenkan dan menghilangkan gelembung udara yang akan menghambat proses pemisahan. Kemudian bubuk silika ini dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang telah dialasi kapas di bagian dasarnya sebagai penyaring, dibiarkan turun sambil dinding kolom diketok-ketok untuk mencegah terbentuknya rongga udara sehingga silika menjadi padat dan rata. .

Sampel yang akan di dikromatografi kolom dipreadsorbsi terlebih dahulu. Caranya dengan mencampurkan sampel dengan silika gel dengan perbandingan 1 : 1. sampel yang telah dipreabsorbsi (4 g) dimasukkan ke dalam kolom yang telah disiapkan

Proses pengelusian dimulai dari pelarut yang bersifat non polar (n-heksana) dilanjutkan dengan komposisi yang semi polar etil asetat. Fraksi-fraksi yang keluar ditampung dengan vial 15 mL kemudian dianalisa pola pemisahan nodanya dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola noda dan Rf yang sama digabung sehingga didapatkan fraksi yang lebih besar. Fraksi yang memberikan pola noda paling sederhana dimurnikan dengan kromatografi preparatif dengan menggunakan perbandingan eluen yang cocok yaitu n-heksana : etil asetat (8 : 2).

3.6.4 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi yaitu dengan pengujian fitokimia, pengukuran dengan spektroskopi ultraviolet (UV-Vis), dan Inframerah.

a. Pengujian fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi. Senyawa hasil isolasi ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard membentuk berwarna merah ungu.

b. Pengukuran dengan Spektroskopi Ultraviolet (UV-Vis).

Karakterisasi senyawa menggunakan *spektrofotometer UV-Vis pharmaspec 1700 shimadzu* dilakukan dengan cara melarutkan 1mg senyawa hasil isolasi dalam 100mL metanol. Alat spektrofotometer diatur daerah serapannya antara 200 – 400 nm. Masukan larutan senyawa hasil isolasi kedalam cuvet dan ukur serapannya dan tentukan serapan maksimumnya. Dari spektrum UV-Vis kita dapat mengidentifikasi senyawa yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi, senyawa aromatik, gugus kromofor dan ausokrom.

c. Pengukuran dengan Spektroskopi Inframerah

Pengukuran pada spektrum inframerah dilakukan pada daerah cahaya inframerah tengah (mid-inframerah) yaitu pada panjang gelombang 1.5 – 10 μm . Energi yang dihasilkan oleh radiasi ini akan menyebabkan vibrasi atau getaran pada molekul. Pita absorpsi inframerah sangat khas dan spesifik untuk setiap tipe ikatan kimia atau gugus fungsi. Jadi dari spektrum inframerah ini kita akan mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam struktur senyawa yang kita dapatkan.

Skema kerja isolasi, fraksinasi dan karakterisasi senyawa dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.6.5 Uji kelarutan kalsium oksalat oleh senyawa hasil isolasi

Pengujian kelarutan kalsium oksalat juga dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi. Larutan dibuat dengan konsentrasi 3 % dari masing-masing fraksi. Kemudian dilakukan perendaman ± 100 mg kalsium oksalat untuk masing-masing fraksi selama 8 jam. larutan disaring, kemudian filtrat di tambahkan 1 mL HNO_3 0,015 M dan diencerkan sampai volumenya 5 mL dengan aquades. Kemudian kandungan Ca^{2+} terlarut ditentukan menggunakan AAS.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Uji Fitokimia *Sonchus arvensis*

Hasil pengujian kandungan metabolit sekunder terhadap *Sonchus arvensis* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia *Sonchus arvensis*

No.	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
1	Alkaloid	Meyer	Terbentuk endapan putih	(+)
2	Flavonoid	Sianidin test	Larutan orange-merah	(+)
3	Steroid	Lieberman-burchad	Terbentuk larutan biru	(+)
4	Triterpenoid	Lieberman-burchad	Larutan merah ungu	(+)
5	Fenolik	FeCl ₃	Larutan biru/ungu	(+)
6	Saponin	H ₂ O	Tidak terbentuk busa	(-)
7	Kumarin	NaOH 1%	Fluorisensi semakin terang	(+)

Keterangan :

(+) : memiliki kandungan metabolit sekunder

(-) : tidak memiliki kandungan metabolit sekunder

Data pada tabel menunjukkan bahwa tanaman *Sonchus arvensis* mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, steroid ,triterpenoid, fenolik dan kumarin

4.2 Kelarutan Kalsium Oksalat oleh ekstrak n-heksan,ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol.

Hasil uji kelarutan kalsium oksalat dilakukan terhadap tiga ekstrak pekat, yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran Jumlah Ca^{2+} yang terlarut dalam masing-masing larutan ekstrak

No	Larutan ekstrak	%	ulangan	Konsentrasi Ca^{2+} (ppm)	% Kalsium Oksalat yang terlarut	Rata-rata (%)
1	Blanko Metanol+ kalsium oksalat)			2,6404	0,0541	0,0541
2	n-heksana	2	(I)	4,2787	0,0336	0,0338
3	n-heksana	2	(II)	4,3000	0,0341	
4	Etil asetat	2	(I)	3,0660	0,0088	0,0148
5	Etil asetat	2	(II)	3,6617	0,0209	
6	Metanol	2	(I)	7,5447	0,1005	0,1241
7	Metanol	2	(II)	9,8426	0,1476	

Dari Tabel 2 diketahui bahwa ekstrak yang paling aktif dalam melarutkan kalsium oksalat adalah ekstrak metanol, dengan besarnya konsentrasi Ca^{2+} yang didapat dari hasil pengukuran AAS. Besarnya angka kelarutan kalsium oksalat pada ekstrak metanol disebabkan karena kemampuan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol dalam melarutkan lebih banyak senyawa yang polar bila dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-heksana. Hasil pengukuran ini digunakan sebagai acuan untuk melakukan ekstraksi sampel *Sonchus arvensis*.

Ekstrak metanol difraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat sehingga didapatkan tiga fraksi yaitu fraksi n-heksana 38,25 g, fraksi etil asetat 5 g dan 17 g fraksi metanol/air. Hasil uji kelarutan kalsium oksalat terhadap fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak metanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran Jumlah Ca^{2+} yang terlarut dalam fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak metanol.

No	Fraksi	%	Konsentrasi Ca^{2+} (ppm)	% Kalsium Oksalat yang terlarut
1	Blanko (metanol + kalsium oksalat)		2,6404	0,0541
2	n-heksana	3	132,450	2,9282
3	Etil asetat	3	82,0000	1,7064
4	Air	3	9,2250	0,1364

Dari hasil pengukuran yang dapat dilihat pada Tabel 3, diketahui bahwa fraksi paling aktif terhadap kelarutan kalsium oksalat adalah fraksi n-heksana. Hal ini disebabkan karena komponen-komponen yang terdapat dalam fraksi metanol banyak terdistribusi dalam pelarut n-heksana sehingga sisa dari komponen yg terkandung dalam fraksi metanol tersebut akan terdistribusi kefraksi etil asetat dan fraksi air, oleh sebab itu karena fraksi metanol banyak yang terdistribusi ke pelarut n-heksan maka jumlah kelarutan kalsium oksalat lebih besar dibandingkan pada fraksi etil asetat dan air. Kemudian fraksi n-heksana dilanjutkan untuk proses isolasi senyawa metabolit sekunder. Perhitungan pengukuran jumlah Ca^{2+} yang terlarut dapat dilihat pada Lampiran III.

4.3 Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi n-heksana

4.3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Maserasi menggunakan pelarut metanol 3 x 1 L sambil sesekali diaduk, masing-masing selama 3 hari dan dilakukan secara berulang-ulang selama 2 minggu. Ekstrak pekat metanol kemudian dilanjutkan untuk fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang nonpolar terlebih dahulu yaitu n-heksana kemudian dilanjutkan dengan etil asetat. Setelah fraksinasi, didapatkan tiga fraksi yaitu fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol/air.

4.3.2 Pemurnian Fraksi n-heksan *Sonchus arvensis* dengan kromatografi

Fraksi n-heksana di KLT sebelum dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom. Hal ini dilakukan untuk melihat eluen yang akan digunakan untuk mengelusi sampel

pada saat kromatografi kolom. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) terhadap fraksi n-heksana dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil KLT ekstrak pekat N-Heksan

No.	Eluen	Pola noda
1	n-heksan 100%	tidak naik
2	n-heksan : etil asetat (9 : 1)	1 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
3	n-heksan : etil asetat (8 : 2)	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
4	n-heksan : etil asetat (7 : 3)	3 noda naik, 2 noda <i>tailing</i>
5	n-heksan : etil asetat (6 : 4)	3 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
6	n-heksan : etil asetat (5 : 5)	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
7	n-heksan : etil asetat (4 : 6)	2 noda naik , 1 noda <i>tailing</i>
8	n-heksan : etil asetat (3 : 7)	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
9	n-heksan : etil asetat (2 : 8)	2 noda naik, 2 noda <i>tailing</i>
10	n-heksan : etil asetat (1 : 9)	2 noda <i>tailing</i>
11	etil asetat 100%	2 noda <i>tailing</i>
12	etil asetat : metanol (9 : 1)	3 noda <i>tailing</i>
13	etil asetat : metanol (8 : 2)	2 noda <i>tailing</i>
14	etil asetat : metanol (7 : 3)	2 noda <i>tailing</i>
15	etil asetat : metanol (6 : 4)	1 noda <i>tailing</i>
16	etil asetat : metanol (5 : 5)	1 noda <i>tailing</i>
17	etil asetat : metanol (4 : 6)	1 noda <i>tailing</i>
18	etil asetat : metanol (3 : 7)	1 noda <i>tailing</i>
19	etil asetat : metanol (2 : 8)	1 noda <i>tailing</i>
20	etil asetat : metanol (1 : 9)	1 noda <i>tailing</i>
21	metanol 100%	1 noda <i>tailing</i>

Berdasarkan uji kromatografi lapis tipis (KLT) yang dilakukan tidak diperoleh pemisahan noda yang baik, maka kromatografi kolom dilakukan menggunakan fasa diam silika gel dan menggunakan sistem pelarut elusi bergradien atau *step gradien polarity (SGP)*. SGP didasarkan pada penarikan pita-pita pada kolom kromatografi sehingga volume eluen akan ditentukan oleh pita-pita tersebut. Perbandingan eluen dimulai dari pelarut n-heksan 100 % hingga pelarut yang polar etil asetat 100%. Eluen ditingkatkan kepolarannya apabila pita yang turun dengan eluen sebelumnya telah terelusi semuanya dan ditampung pada vial 15 mL. Berikut data volume masing-masing eluen yang dielusikan.

Tabel 5. Tabel volume masing-masing eluen yang dielusikan secara SGP

No	Eluen	Volume eluen (mL)
1	n-heksan 100%	150
2	n-heksan : etil asetat (9 : 1)	300
3	n-heksan : etil asetat (8 : 2)	500
4	n-heksan : etil asetat (7 : 3)	200
5	n-heksan : etil asetat (6 : 4)	250
6	n-heksan : etil asetat (5 ; 5)	100
7	n-heksan : etil asetat (4 : 6)	250
8	n-heksan : etil asetat (3 : 7)	300
9	n-heksan : etil asetat (2 : 8)	400
10	n-heksan : etil asetat (1 : 9)	200
11	etil asetat 100%	200

Dari data pada Tabel 8, terlihat bahwa volume eluen yang paling banyak digunakan adalah pada perbandingan eluen n-heksana : EtOAc (8 : 2). Hal ini disebabkan, pada proses pengelusan dengan menggunakan n-heksana : EtOAc (8 : 2) terdapat banyak pita pada kolom kromatografi, sehingga dibutuhkan eluen dengan volume yang

banyak untuk mengelusi supaya pita tersebut dapat turun semuanya. Sedangkan pada proses pengelusan dengan menggunakan pelarut n-heksan 100% tidak membutuhkan volume yang banyak. Hal ini disebabkan, tidak terlihatnya pita yang turun pada kolom kromatografi, untuk itu diputuskan untuk melanjutkan pengelusan dengan meningkatkan kepolaran pelarut ke perbandingan berikutnya.

Hasil dari kromatografi kolom yang telah ditampung dalam vial 15 mL dilakukan KLT. Berdasarkan hasil KLT, fraksi-fraksi yang memiliki pola noda larutan yang sama digabung menjadi fraksi yang lebih besar, sehingga didapatkan 11 fraksi. Masing-masing fraksi kemudian diuji kandungan triterpenoidnya dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard.

Tabel 6. Hasil penggabungan fraksi dari kromatografi kolom berdasarkan pola noda yang sama

No	Fraksi	No. vial	Noda hasil KLT
1	A	1 – 29	1 noda <i>tailing</i>
2	B	31 – 55	2 noda <i>tailing</i>
3	C	57 – 79	3 noda naik. 1 noda <i>tailing</i>
4	D	81 – 89	2 noda naik, 1 noda <i>tailing</i>
5	E	91 – 99	2 noda <i>tailing</i>
6	F	101 – 127	3 noda <i>tailing</i>
7	G	129 – 147	1 noda <i>tailing</i>
8	H	149 – 169	4 noda <i>tailing</i>
9	I	171 – 199	3 noda <i>tailing</i>
10	J	201 – 217	2 noda <i>tailing</i>
11	K	219 – 225	1 noda <i>tailing</i>

Berdasarkan data pada tabel 4 diketahui ada 2 fraksi yang memberikan uji positif terhadap triterpenoid yaitu fraksi C dan D. Selanjutnya pengerjaan difokuskan pada fraksi D karena fraksi ini memperlihatkan adanya kristal jarum tidak berwarna dalam jumlah yang relatif banyak setelah pelarutnya diuapkan. Selanjutnya fraksi dilarutkan dengan pelarut etil asetat kemudian dimonitor dengan KLT menggunakan pelarut n-heksana : etil asetat (8 : 2) dan didapatkan 2 noda naik dan satu tailing dilihat di bawah lampu UV $\lambda = 365$ nm dan 254 nm yaitu 1 noda berwarna merah kecoklatan dan 2 noda terpisah berwarna biru muda. Dari hasil KLT diketahui bahwa fraksi D ini belum murni. Kemudian dilakukan kromatografi preparatif dengan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat 8 : 2 untuk pemurnian senyawa hasil isolasi. Hasil kromatografi preparatif kemudian di KLT dengan menggunakan eluen yang sama dan dimonitor di bawah lampu UV terlihat noda tunggal berwarna kemerahan, dan dimonitor dengan KLT dengan berbagai perbandingan eluen yang memperlihatkan satu noda tunggal serta memberikan hasil positif triterpenoid pada uji Liebermann-Burchard yang memberikan warna coklat-kemerahan setelah dipanaskan diatas *hot plate*. Berikut nilai Rf senyawa hasil isolasi dengan berbagai perbandingan eluen seperti yang tercantum pada tabel berikut :

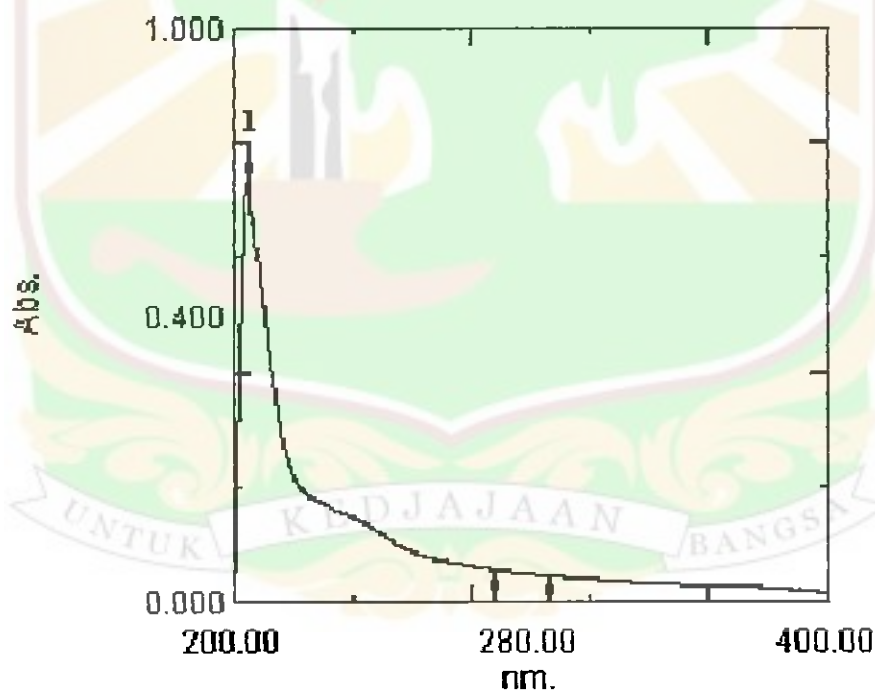
Tabel 7. Hasil KLT senyawa hasil isolasi dengan berbagai perbandingan eluen

No	Eluen	Rf
1	n-heksan : etil asetat (7 : 3)	0,52
2	n-heksan : etil asetat (6 : 4)	0,62
3	n-heksan : etil asetat (5 : 5)	0,68
4	n-heksan : etil asetat (2 : 8)	0,85

Selanjutnya dilakukan pengukuran titik leleh terhadap senyawa hasil isolasi dan didapatkanlah jarak titik leleh 96,7-98,4 °C. Berdasarkan jarak titik leleh, yang memberikan jarak titik leleh yang cukup pendek, mengindikasikan senyawa hasil isolasi telah murni.

4.3.3 Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Senyawa hasil isolasi di uji metabolit sekunder dengan penambahan pereaksi Lieberman-Burchard menghasilkan warna coklat kemerahan. Hal ini menandakan senyawa hasil isolasi merupakan golongan triterpenoid. Selanjutnya dilakukan pengukuran titik leleh terhadap senyawa hasil isolasi dan didapatkanlah jarak titik leleh 96,7-98,4 °C. Berdasarkan jarak titik leleh, yang memberikan jarak titik leleh yang cukup pendek, mengindikasikan senyawa hasil isolasi telah murni. Karakterisasi senyawa hasil isolasi ini dilakukan dengan menggunakan spektrometer UV-Vis Shimadzu UV Pharmaspec 1700.

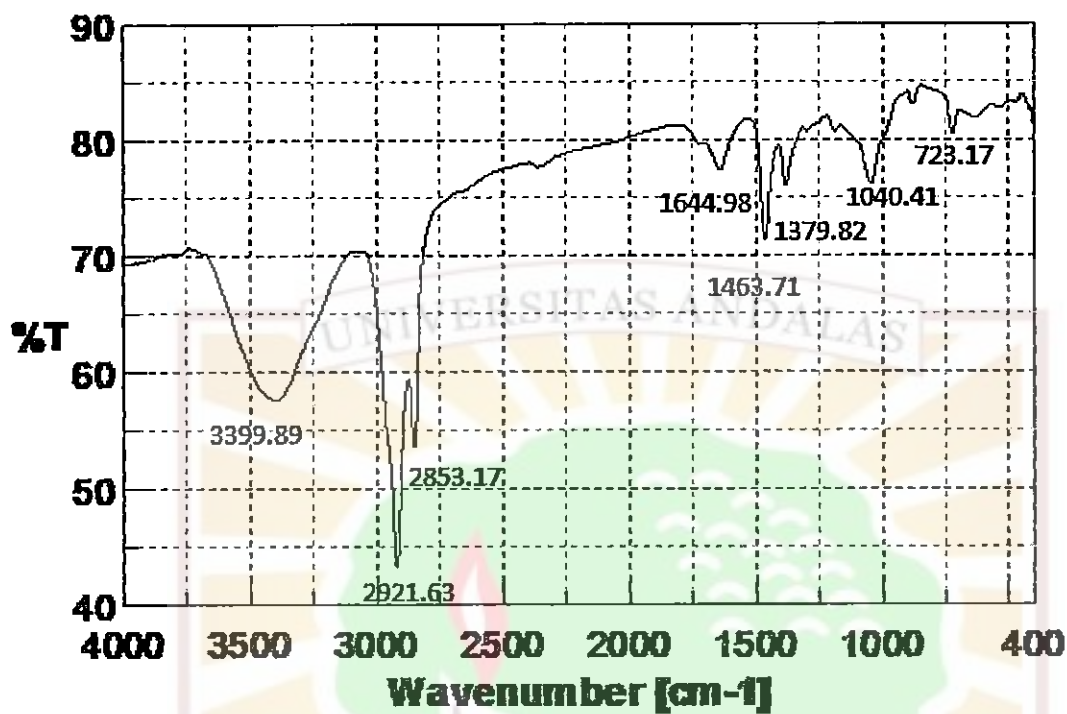


Gambar 2. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut MeOH

Berdasarkan pita serapan maksimum yang diperoleh dari spektrum UV mengindikasikan adanya ikatan rangkap yang tidak berkonyugasi, karena sistem konyugasi ini menyerap pada panjang gelombang di 205.00 nm dan mengindikasikan adanya kromofor yang memberikan transisi dari $\pi \rightarrow \pi^*$. Umumnya senyawa yang mempunyai transisi $\sigma \rightarrow \sigma^*$ mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 150 nm, senyawa yang mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (tidak berkonjugasi) mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 190 nm, sedangkan senyawa yang mempunyai transisi $n \rightarrow \pi^*$ mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 300 nm. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang λ_{maks} 206 nm. Ini mengindikasikan tidak adanya ikatan rangkap berkonjugasi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi.¹⁹

Penggunaan MeOH sebagai pelarut dalam pengukuran spektrum UV ini dikarenakan senyawa hasil isolasi larut baik dalam MeOH. Di samping itu MeOH memiliki ikatan hidrogen dibandingkan pelarut non polar seperti n-heksana. Energi yang diperlukan untuk transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ pada molekul yang berantaraksi (senyawa hasil isolasi) dengan pelarut polar (MeOH) lebih kecil daripada energi yang diperlukan untuk transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ pada molekul pada pelarut non polar (n-heksana). Oleh karena itu keadaan tereksitasi akan lebih termantapkan oleh MeOH daripada keadaan dasar dan absorpsi akan terjadi pada panjang gelombang yang stabil dan optimum¹⁵.

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan spektroskopi inframerah dapat dilihat :



Gambar 3 : Spektrum Inframerah hasil isolasi

Dari spektrum IR senyawa hasil pemurnian memberikan indikasi beberapa pita serapan penting yaitu pada daerah bilangan gelombang 3399.89 cm^{-1} terdapat regang OH yang didukung dengan adanya vibrasi ulur alkoksi (C-O) dalam alkohol dan fenol pada daerah bilangan gelombang 1040.41 cm^{-1} dan serapan OH ini didukung dengan adanya daerah 723.17 cm^{-1} yang menunjukkan bahwa OH tersebut berada diluar bidang, sedangkan pada daerah bilangan gelombang 1644.98 cm^{-1} menunjukkan adanya regang C=C. Adanya -CH_2 dan -CH_3 ditunjukkan pada daerah serapan bilangan gelombang 2853.17 cm^{-1} dan 2921.63 cm^{-1} yang didukung dengan adanya bengokan -CH_3 bilangan gelombang $1463,71\text{ cm}^{-1}$. Adanya serapan khas senyawa golongan triterpenoid ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1379.82 cm^{-1} dimana serapan geminal dimeteil biasanya pecah menjadi 2 puncak dengan intensitas

yang sama tapi kedua puncak ini tidak selalu tampak pada semua spektra yang umum dijumpai hanya satu puncak saja.²⁰

Dari data titik leleh, spektrum UV, spektrum IR, dan hasil uji Liebermann-Burchard terhadap senyawa hasil isolasi yang memberikan pengamatan warna merah-kecoklatan, memperkuat gambaran bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan triterpenoid.

4.3.4 Kelarutan Kalsium Oksalat Senyawa Hasil Isolasi

Uji kelarutan kalsium oksalat juga dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi. Uji ini dilakukan untuk membuktikan bahwa senyawa triterpenoid yang didapatkan dari hasil isolasi daun kumis kucing memiliki kemampuan melarutkan kalsium oksalat. Hasil uji kelarutan senyawa murni hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 8

Tabel 8. Hasil pengukuran konsentrasi Ca^{2+} yang terlarut dalam senyawa hasil isolasi

No	Fraksi	%	Konsentrasi Ca^{2+} (ppm)	% Kalsium Oksalat yang terlarut
1	Blanko		1,1880	0,0244
2	Senyawa hasil isolasi	9,2	19,125	0,3676

Dari hasil pengukuran yang dapat dilihat pada Tabel 8, diketahui bahwa senyawa hasil isolasi terbukti dapat melarutkan kalsium oksalat

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap daun *Sonchus arvensis* maka dapat disimpulkan :

1. Ekstrak metanol memiliki kemampuan melarutkan kalsium oksalat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan
2. Fraksi n-heksan dari ekstrak metanol memiliki kemampuan melarutkan kalsium oksalat lebih besar dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi air
3. Senyawa yang didapatkan pada fraksi aktif adalah triterpenoid dan mempunyai gugus fungsi O-H, C-O, C=C, CH₂, CH₃, germinal dimetil
4. Senyawa triterpenoid yang didapatkan memiliki kemampuan melarutkan kalsium oksalat sebesar 0,3677 %
5. Spektrum UV senyawa isolasi menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang λ_{maks} 206 nm yang mengindikasikan tidak adanya ikatan rangkap berkonjugasi pada senyawa hasil isolasi

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut untuk menentukan struktur dari senyawa flavon hasil pemurnian dengan melengkapi data MS, ¹H NMR, ¹³C NMR.
2. Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap fraksi dari air dan etil asetat tanaman *Sonchus arvensis*

DAFTAR PUSTAKA

1. Nilam, W. 2008. *Uji Kelarutan Batu ginjal Kalsium dalam Fraksi Air dan Frakssi Etil Asetat Daun Jagung (Zea Mays) secara in vitro dengan Metoda Spektrofotometri Serapan Atom. Universitas Muhammadiyah : Surakarta*
2. Retnowati, K. 2009. *Pengaruh Infusa Akar Tempuyung (Sonchus arvensis) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Pada Tikus Putih (Rattus Novergicus). Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah : Surakarta*
3. Dhianawaty D. 2008. *Isolasi Karakterisasi dan Uji Aktif Pencegahan Antikalkuli 7-0 Glukosida dari Daun Sonchus arvensis dengan Metoda Matrik asam- Glutamat. UNPAD : Bandung*
4. Afrizal. 2008. *Analitycal Bioactivity and Stability Studies on Strobilantes Cripus L Bremek and Sonchus arvensis L.Extracts. Universiti Sains Malaysia. Disertasi*
5. Rini, Panca. 2008. *Efek Antidiare Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sonchus arvensis) Pada Mencit Jantan Galur Swiss Webler Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah : Surakarta.*
6. Ratri, WN. 2008. *Uji Kelarutan Batu Ginjal Kalsium Dalam Fraksi Air dan Fraksi Etil Asetat Daun Jagung (Zea mays L) Secara Invitro dengan Metoda AAS. Universitas Muhammadiyah : Surakarta*
7. Dewi, MS. 2010. *Mempelajari daya Larut Kalsium Oksalat oleh ekstrak dan Fraksi Air daun Kejibeling (Strobilanthes crispus). FMIPA UNAND : Padang.*
8. Wakidi. 2003. *Prospek Tumbuhan Obat Tradisional untuk Menghancurkan Batu Ginjal. Fakultas Kedokteran USU: Medan.*
9. Lina, Nur. 2008. *Faktor-faktor Resiko Kejadian Batu Saluran Kemih pada Laki-laki. Universitas Diponegoro: Semarang.*
10. Djamal, Rusjdi, Fitokimia, Unand, Padang, 1985, hal 5-15
11. Fieser, L.F. M. Fieser, *Organic Chemistry*, John Wiley and Sons Ltd Chishester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, Hal 66- 214

12. Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. FMIPA USU : Medan.
13. Suyani, H. *Kimia dan Sumber Daya Alam*, Pusat Penelitian Universitas Andalas Padang, 1991, hal 47-48
14. Al-Anshori, Jamaludin. 2005. *Spektrometri Serapan Atom*. Universitas Padjajaran : Bandung
15. Harmita, Dr. *Analisis Fisiko Kimia. Spektroskopi Serapan Atom (SSA/AAS)*.
16. Nasution, AR. 2008. *Isolasi Senyawa Triterpenoid/Steroid dari Daun Tumbuhan Karamuntiang (Rhodomyrtus tanentosa Wight)*. Universitas Sumatera Utara : Medan
17. Harborne, T.B. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*.
18. Ibrahim, S. 1998. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Universitas Andalas : Padang
19. <http://anna-permata-sari.staf.upi.edu/Spekro-UV-Vis>. 2011.
20. Butterweck, Veronika and Saeed Khan. 2009. *Herbal Medicine in the Management of Urolithiasis Alternative or Complementary*. University of Florida : USA .

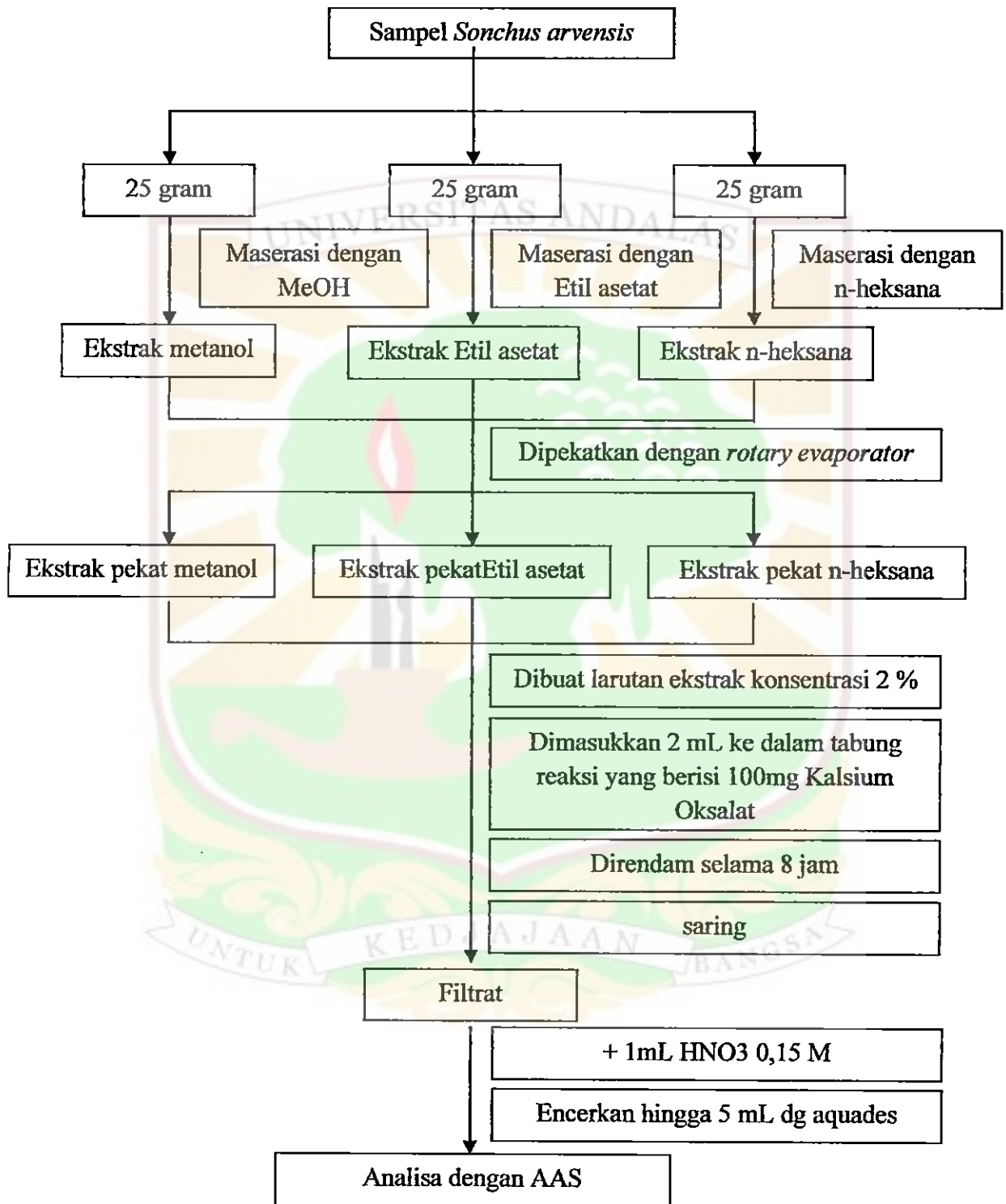
Lampiran I

Gambar tumbuhan *Sonchus arvensis*

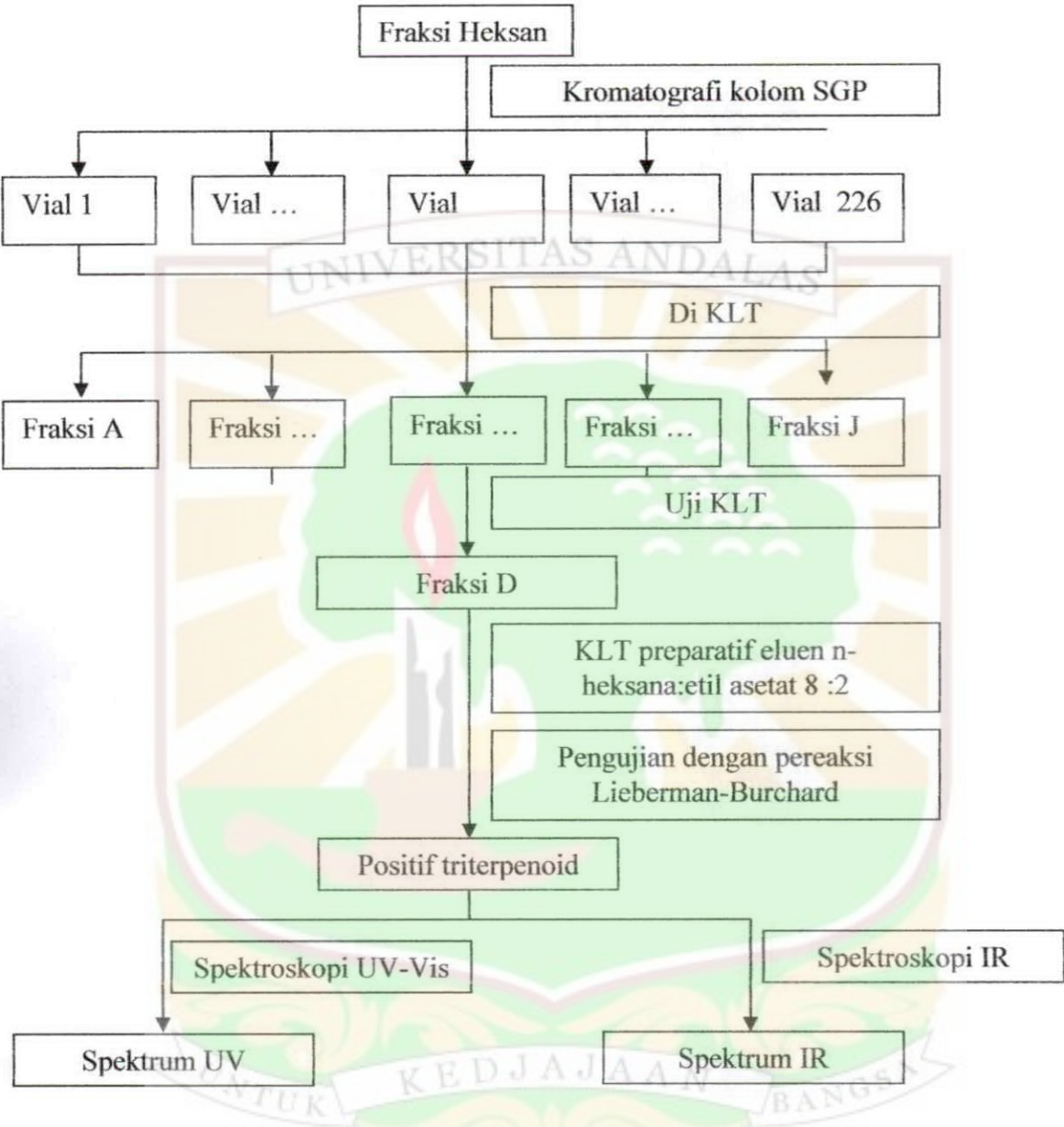


Lampiran II

Skema Kerja Uji Pendahuluan Kelarutan Kalsium Oksalat



Lampiran III. Skema Kerja Isolasi Triterpenoid dari Fraksi Heksan



Lampiran IV

Contoh Perhitungan

a. Menghitung kadar kalsium oksalat yang terlarut oleh ekstrak n-heksan 2%

1. Blanko

$$2,6404 \text{ mg/L} = 2,6404 \text{ }\mu\text{g/mL}$$

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{2,6404 \text{ }\mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 13,202 \text{ }\mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= \frac{\text{Mr CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}{\text{Ar Ca}} \times \text{Ca}^{2+} = \frac{164 \text{ g/mol}}{40 \text{ g/mol}} \times 13,202 \text{ }\mu\text{g} \\ &= 54,128 \text{ }\mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\text{Kadar CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \frac{54,128 \text{ }\mu\text{g}}{100000 \text{ }\mu\text{g}} \times 100\% = 0,0541 \%$$

2. Ekstrak n-heksana 2% (I)

$$4,2787 \text{ mg/L} = 4,2787 \text{ }\mu\text{g/mL}$$

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{4,2787 \text{ }\mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 21,394 \text{ }\mu\text{g}$$

$$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \frac{164 \text{ g/mol}}{40 \text{ g/mol}} \times 21,394 \text{ }\mu\text{g} = 87,715 \text{ }\mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= \frac{87,715 \text{ }\mu\text{g}}{100000 \text{ }\mu\text{g}} \times 100\% = 0,0877\% \\ &= 0,0877\% - 0,0541 \% = 0,0336 \% \end{aligned}$$

b. Menghitung kadar kalsium oksalat yang terlarut oleh fraksi n-heksan 3%

1. Blanko

$$2,6404 \text{ mg/L} = 2,6404 \text{ }\mu\text{g/mL}$$

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{2,6404 \text{ }\mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 13,202 \text{ }\mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= \frac{\text{Mr CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}{\text{Ar Ca}} \times \text{Ca}^{2+} = \frac{164 \text{ g/mol}}{40 \text{ g/mol}} \times 13,202 \text{ }\mu\text{g} \\ &= 54,128 \text{ }\mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\text{Kadar CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \frac{54,128 \text{ }\mu\text{g}}{100000 \text{ }\mu\text{g}} \times 100\% = 0,0541 \%$$

2. Fraksi n-heksana 3%

$$132,450 \text{ mg/L} = 132,450 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{132,450 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 662,25 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \frac{164 \text{ g/mol}}{40 \text{ g/mol}} \times 662,25 \text{ } \mu\text{g} = 2715,225 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= \frac{2715,225 \text{ } \mu\text{g}}{100000 \text{ } \mu\text{g}} \times 100\% = 2,715225\% \\ &= 2,715225\% - 0,0541\% = 2,661125\% \end{aligned}$$

C. Menghitung kadar kalsium oksalat yang terlarut pada senyawa hasil isolasi

1. Blanko

$$2,6404 \text{ mg/L} = 2,6404 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{1,1880 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 5,9400 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= \frac{\text{Mr CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}{\text{Ar Ca}} \times \text{Ca}^{2+} = \frac{164 \text{ g/mol}}{40 \text{ g/mol}} \times 5,9400 \text{ } \mu\text{g} \\ &= 24,3540 \text{ } \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\text{Kadar CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \frac{24,3540}{100000 \text{ } \mu\text{g}} \times 100\% = 0,0244 \%$$

2. Senyawa hasil isolasi

$$19,125 \text{ mg/L} = 19,125 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{19,125 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 95,625 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= \frac{\text{Mr CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}{\text{Ar Ca}} \times \text{Ca}^{2+} = \frac{164 \text{ g/mol}}{40 \text{ g/mol}} \times 95,625 \text{ } \mu\text{g} \\ &= 392,0625 \text{ } \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\text{Kadar CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \frac{392,0625 \text{ } \mu\text{g}}{100000 \text{ } \mu\text{g}} \times 100\% = 0,3921 \%$$

$$= 0,3921 - 0,0244 = 0,3677 \%$$

Lampiran V

Kurva Kalibrasi Standar Ca^{2+}

Konsentrasi Standar (ppm)	Absorban
2	0,0123
5	0,0475
10	0,0861
15	0,1288
20	0,1882

